

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 24 April 2018 sampai dengan 13 Mei 2018 di Laboratorium Pakan Alami, Balai Perikanan Budidaya Air Payau, Situbondo.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan dan Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

3.2.1 Bahan Penelitian

Tabel 3. Bahan-Bahan Yang Digunakan Untuk Kultur *Tetraselmis chuii*

Nama Bahan	Kegunaan
<i>Tetraselmis chuii</i>	Biota Peliharaan
Pupuk Walne	Sumber Nutrien
Asam, 2,4-D (ZPT)	Hormon Tumbuh
Air Laut Steril	Media
Aquades	Pelarut
Tissue	Sebagai Pengering
Kertas Label	Penulisan Kode Wadah
Clorine Test	Mengecek Kandungan Kaporit
Alkohol 70%	Melumpuhkan Plankton
Na Tiosulfat	Untuk Menghilangkan Kandungan Kaporit
Kaporit 10 ppm	Mensterilkan Air Laut

3.2.2 Alat Penelitian

Tabel 4. Alat-Alat Yang Digunakan Untuk Kultur *Tetraselmis chuii*

Nama Alat	Ukuran	Kegunaan
Toples	2 L	Sebagai wadah uji kultur <i>Tetraselmis chuii</i>
Botol Film	10 mL	Sebagai wadah sampel untuk menghitung kepadatan
Pipet Ukur	10 mL	Untuk mengambil bahan uji dan larutan pupuk
Mikroskop	-	Untuk menghitung kepadatan <i>Tetraselmis chuii</i>
Hand Counter	-	Sebagai alat bantu untuk menghitung kepadatan T. Chuii
Batu Aerasi, Selang Aerasi, dan Aerator	-	Untuk aerasi media tumbuh <i>Tetraselmis Chuii</i>
Lampu TL	20 watt	Sebagai sumber cahaya dalam pemeliharaan <i>Tetraselmis chuii</i>
Pipet Tetes	-	Untuk mengambil sampel

Tabel 5. Alat-Alat Yang Digunakan Untuk Pengukuran Kualitas Air

Nama Alat	Ukuran/ Ketelitian	Kegunaan
Termometer	1°C	Mengukur Suhu Air
pH Indikator	-	Mengukur pH
Refraktometer	1%	Mengukur Salinitas air

3.3 Batasan Variabel

Adapun batasan variabel dalam penelitian ini adalah:

1. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (Zat Pengatur Tumbuh)

Asam 2,4-D merupakan golongan auksin sintetis. Auksin merupakan salah satu hormon tanaman yang dapat mendukung proses fisiologi seperti pertumbuhan, pembelahan dan diferensiasi sel serta sintesis protein (Darnell *et al.*, 1986 dalam Purwitasari dkk, 2012).

2. Pertumbuhan *Tetraselmis chuii*

Pertumbuhan *Tetraselmis chuii* dapat diketahui dengan menghitung kepadatan populasinya berdasarkan metode *haemocytometer* dengan satuan individu (Kurniastuty, 1995 dalam Pujiono, 2013).

3. Kultur Skala Laboratorium

Intensitas cahaya dalam kultur *Tetraselmis chuii* skala laboratorium 200-10.000 lux, pertumbuhan dalam kultur skala laboratorium juga di pengaruhi oleh kualitas air, aerasi dan nutrisi (Cahyaningsih, *et al.*, 2010).

3.4 Metode Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL adalah suatu rancangan dimana perlakuan dilibatkan sepenuhnya secara acak pada unit-unit eksperimen. Rumus Rancangan Acak Lengkap adalah :

$$Y_{ij} : \mu + \alpha_i + \Sigma_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} : Nilai parameter utama akibat perlakuan ke-i (P1, P2, P3, P4) dan ulangan ke-j (U1, U2, U3, U4, U5)

μ : Nilai rata-rata (nilaitengah)

α_i : Pengaruhperlakuanke-i (P1, P2, P3, P4)

Σ_{ij} : Pengaruh kesalahan perlakuan akibat perlakuan ke-j

i : Jumlah per lakuan (P1, P2, P3, P4)

j : Jumlah Ulangan (U1, U2, U3, U4, U5)

Bibit *Tetraselmis chuii* berasal dari Balai Perikanan Budidaya Air Laut, Situbondo, Jawa Timur. *Tetraselmis chuii* dikultur skala laboratorium dengan 7 perlakuan dan 4 kali ulangan. Perlakuan dalam penelitian ini adalah penambahan Zat Pengatur Tumbuh Asam-2,4-D dengan konsentrasi yang berbeda. Menurut Purwitasari dkk (2012) penambahan Asam-2,4-D kurang dari 4 ml dan lebih dari 6 ml menyebabkan kepadatan mikroalga (*Nannochloropsis oculata*) mengalami pertumbuhan yang lebih lambat dan pemberian konsentrasi Asam-2,4-D sebanyak 5 ml menghasilkan kepadatan sel tertinggi. Larutan stok Asam-2,4-D yang digunakan sebanyak 100 ml dengan konsentrasi 100 mg Asam 2,4- D. Oleh karena itu konsentrasi larutan asam-2,4-D yang diberikan dalam penelitian ini beserta kontrol adalah:

A: Perlakuan A dengan Pemberian Asam-2,4-D 4 ml + 1 ml Walne

B: Perlakuan B dengan Pemberian Asam-2,4-D 5 ml + 1 ml Walne

C: Perlakuan C dengan Pemberian Asam-2,4-D 6 ml + 1 ml Walne

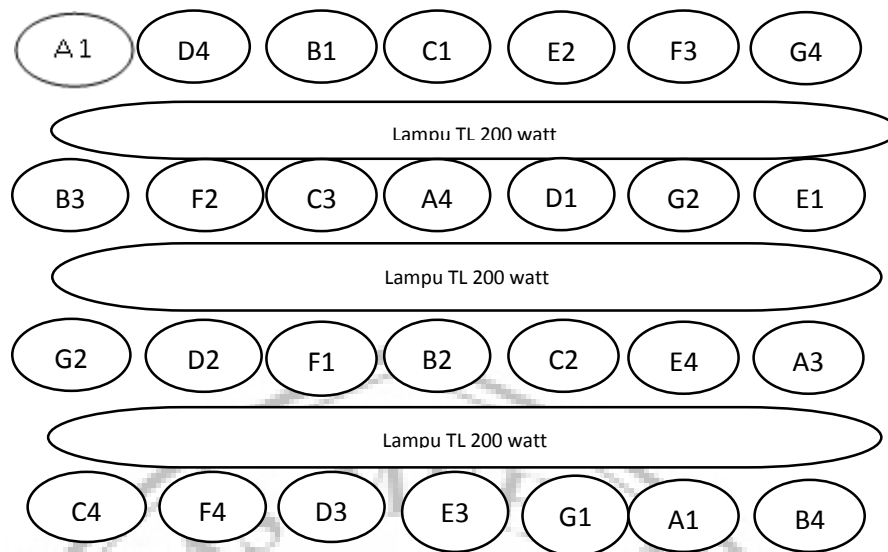
D: Perlakuan D dengan Pemberian Asam-2,4-D 4 ml

E: Perlakuan E dengan Pemberian Asam-2,4-D 5 ml

F: Perlakuan F dengan Pemberian Asam-2,4-D 6 ml

G: Perlakuan G dengan Pemberian Walne 1 ml (kontrol)

Tata letak wadah penelitian dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Tata Letak Wadah Penelitian

3.5 Prosedur Penelitian

Prosedur dalam penelitian ini mengikuti SOP yang ada di BPBAP Situbondo adapun langkah – langkah yang di lakukan dalam penelitian ini adalah:

3.5.1 Persiapan Media Kultur

Wadah yang digunakan dalam penelitian ini yaitu toples diameter 10 cm dengan volume 2 liter. Persiapan media kultur meliputi dua tahap yaitu sterilisasi alat dan sterilisasi air laut.

1. Sterilisasi Alat

- Peralatan penelitian dicuci dengan sabun dan dibilas dengan air tawar hingga bersih, kemudian di semprot alkohol 70% dan ditiriskan.
- Peralatan selang dan batu aerasi direndam dalam air yang mengandung kaporit dan dibilas menggunakan Na Tiosulfat..
- Peralatan gelas seperti pipet, tabung reaksi gelas ukur, *baker glass* dan *erlenmeyer* disterilisasi dalam *autoclave*.

2. Sterilisasi Air Laut

- Air laut disaring dengan *san filter* kemudian disaring dengan *cartridge filter* bekuran 10 µm.
- Air laut yang telah disaring kemudian di tampung kedalam gentong plastik dengan kapasitas 300 Liter.
- Masukkan kaporit dengan dosis 10 ppm, dan di diamkan selama 24 jam.
- Masukkan Na Tiosulfat untuk menetralkan kandungan kaporit dengan dosis 10 ppm.

3.5.2 Persiapan Bahan Kultur

Inokulan *Tetraselmis chuii* didapat dari Laboratorium pakan Alami BPBAP Situbondo. Larutan stok Asam 2,4-D yang digunakan sebanyak 100 ml dengan konsentrasi 100 mg Asam 2,4- D. Penambahan konsentrasi Asam 2,4-D pada setiap media kultur yaitu: Perlakuan A (4ml + 1 ml walne), B (5ml + 1 ml walne), C (6ml + 1 ml walne), dan D (4 ml), E (5 ml), F (6ml) tanpa penambahan pupuk walne, G sebagai control adalah pupuk Walne dosis 1 ml/L.

3.5.3 Penebaran Bibit

Pada penanaman bibit kepadatan sel awal yang digunakan adalah 100.000 sel/mL. Langkah untuk mendapatkan kepadatan awal dihitung dengan rumus pengenceran. Menurut Edhy *etal* (2003) rumus pengenceran sebagai berikut:

$$V1 = \frac{V2 \times N2}{N1}$$

V1 : volume bibit yang diperlukan untuk penebaran awal

V2 : volume air media yang akan ditebari bibit

N1 : jumlah stok *Tetraselmis chuii*

N2 : jumlah *Tetraselmis chuii* yang diinginkan

Penebaran bibit dilakukan setelah wadah siap digunakan, adapun langkah-langkahnya adalah sebagai berikut:

- a. Masing- masing wadah toples steril diisi dengan air laut yang telah disterilisasi sebanyak 700 ml.
- b. Toples yang telah berisi air laut di tambahkan pupuk walne dengan konsentrasi 1ml kecuali perlakuan D, E dan F.
- c. Setelah media telah siap dijadikan tempat tumbuh *Tetraselmis chuii* bibit *Tetraselmis chuii* dimasukan kedalam media kultur sebanyak 300 ml dengan kepadatan awal 1×10^5 . Kemudian auksin sintetik Asam 2,4-D di tambahkan sesuai dosis perlakuan masing-masing media kultur. (Wadah kultur diletakkan pada Meja kultur yang dilengkapi dengan lampu TL (20 watt) kemudian diberi aerasi dan ditempatkan dalam ruangan dengan suhu terkontrol. Dilakukan pengukuran kualitas air pagi dan sore hari setiap hari.
- d. Kepadatan populasi *Tetraselmis chuii* dihitung dengan 2 kali penghitungan setiap hari menggunakan *haemocytometer* hingga terjadi penurunan populasi.

3.6 Parameter Pengamatan

3.6.1 Parameter Utama

1. Pertumbuhan

Pengamatan terhadap pertumbuhan *Tetraselmis chuii* dilakukan dengan mengamati kepadatan populasi *Tetraselmis chuii* setiap hari mulai dari awal

penelitian hingga kepadatan populasi mencapai titik tertinggi pada fase eksponensial kemudian kepadatan populasi mengalami penurunan pada akhir penelitian, dan laju pertumbuhan spesifik. Untuk menghitung kepadatan populasi *Tetraselmis chuii* digunakan *Haemocytometer* model *Neubreuer* dan diamati dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 400 kali. Perhitungan Kepadatan *Tetraselmis chuii* dilakukan 2 kali dalam sehari pada pukul; 05:00 Wib dan 17:00 Wib. Estimasi perhitungan kepadatan populasi sel menurut Kurniastuty (1995) dalam Pujiono (2013) adalah:

Proses penghitungan menggunakan *hemaecytometer* sebagai berikut:

- a. *Hemaecytometer* dibersihkan dengan aquades dan dikeringkan dengan kertas tissue kemudian ditutup dengan kaca penutup.
- b. Kultur T. *chuii* sebanyak 1ml ditetaskan menggunakan pipet tetes pada bagian saluran yang melintang hingga penuh. Penetesan dilakukan secara hati-hati agar tidak terjadi gelembung udara di bawah kaca penutup. Alkohol ditetaskan pada keempat ujung saluran sebagai pengganti formalin sebanyak empat tetes untuk melumpuhkan pergerakan sel T. *chuii* agar mudah dihitung.
- c. Selanjutnya *hemaecytometer* diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali dan dicari bidang yang berkotak-kotak.
- d. *Hemaecytometer* yang diamati memiliki bidang pandang berbentuk bujur sangkar dengan ukuran sisi 1 mm, tinggi 0,1 mm. Apabila ditutup dengan kaca penutup volumenya menjadi 0,1 mm³ atau 10⁻⁴ ml. Jumlah sel T. *Chuii* diketahui dengan cara menghitung sel yang terdapat pada kotak bujur sangkar

yang memiliki sisi 1 mm. Menurut Satyanti, dkk (2016), rumus yang digunakan menggunakan metode Big Block yaitu:

$$\text{Kepadatan Fitoplankton (Sel/ml)} = \frac{(nA + nB + nC + nD) \times 10^4}{4}$$

Keterangan:

$nA + nB + nC + nD$ = Jumlah sel fitoplankton pada A,B,C,D

Konstanta 4 = Jumlah blok yang dihitung

2. Analisis Data Pertumbuhan *Tetraselmis chuii*

Analisa data pertumbuhan *Tetraselmis chuii* sebagai berikut:

a. Fase Pertumbuhan *Tetraselmis chuii*

Fase pertumbuhan hari ke t = Jumlah sel terhitung pada hari ke t

b. Penghitungan laju pertumbuhan (K)

Kepadatan T. chuii (N) dihitung dengan rumus: Jumlah sel T. chuii $\times 10^4$ sel/ml

(Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995 dalam Pujiono, 2013). Laju pertumbuhan T. chuii dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$K = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{T}$$

Keterangan :

K = Laju pertumbuhan (pembelahan ^{sel/ml} /hari)

N_t = kepadatan sel pada hari ke t (sel/ml)

N_0 = kepadatan awal sel (sel/ml)

T = Lama penyinaran (hari)

3.6.2 Parameter Penunjang

Pengukuran kualitas air dilakukan setiap hari adalah Suhu, pH dan salinitas.

Pengukuran Kualitas air dilakukan pada pukul 04:30 Wib dan 15:30 Wib.

3.7 Analisa Data

Data yang diperoleh kemudian dilakukan sidik ragam atau analisa varians (ANOVA) untuk menentukan pengaruh atau tidak perlakuan terhadap hasil penelitian, jika berpengaruh nyata maka dilakukan dengan uji BNT untuk menentukan perlakuan yang optimal pada taraf kepercayaan 95% untuk membandingkan nilai antar perlakuan hasil dari penelitian diuraikan secara diskriptif.

